

# Biomarkeri ranog otkrivanja akutnog bubrežnog zatajenja

## Biomarkers for the early detection of acute kidney injury

Branka Sladoje-Martinović<sup>1\*</sup>, Lidija Orlić<sup>1</sup>, Željko Župan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zavod za nefrologiju i dijalizu,  
Klinički bolnički centar Rijeka

<sup>2</sup>Klinika za anesteziologiju i intenzivno  
liječenje, Klinički bolnički centar Rijeka

Prispjelo: 14. 6. 2010.

Prihvaćeno: 22. 9. 2010.

**Sažetak.** Unatoč značajnom napretku u terapijskom smislu, akutno bubrežno zatajenje (ABZ) i dalje je praćeno visokim morbiditetom i mortalitetom. Jedan od glavnih razloga kasna je detekcija i odgođena inicijalna terapija.

Prikazani su noviji biomarkeri koji bi mogli pomoći u ranijem postavljanju dijagnoze ABZ. Među njima najviše obećava *neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL). Prikazana je uloga i mjerenje NGAL-a u različitim kliničkim stanjima koja dovode do ABZ. U budućim kliničkim istraživanjima potrebno je na velikom broju uzoraka ispitati senzitivnost i specifičnost mjerenja koncentracije NGAL-a, a i drugih biomarkera.

**Ključne riječi:** akutno bubrežno zatajenje, biomarkeri akutnog bubrežnog zatajenja, lipokalin

**Abstract.** Despite significant improvements in therapeutics, acute kidney injury (AKI) is still associated with high morbidity and mortality. One of the main reasons is delayed detection and initial therapy.

There are some novel biomarkers which can help in diagnostics of AKI. The most promising among them is neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL). This article discusses the role of NGAL and means of its measurement in various clinical samples which cause AKI. It is important to validate sensitivity and specificity of these biomarkers in future clinical studies.

**Key words:** acute kidney injury, biomarkers for acute kidney injury, lipocalin

Adresa za dopisivanje:

\*Branka Sladoje-Martinović, dr. med.

Zavod za nefrologiju i dijalizu

Klinika za internu medicinu

KBC Rijeka

Tome Strižića 3, 51 000 Rijeka

e-mail: martinovic.branka@gmail.com

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

## UVOD

Incidencija akutnog bubrežnog zatajenja (ABZ) varira od 5 % kod ukupno hospitaliziranih bolesnika do 30 do 50 % kod bolesnika hospitaliziranih u jedinicama intenzivnog liječenja<sup>1</sup>. U današnjoj kliničkoj praksi ABZ se obično dijagnosticira mjerenjem serumskog kreatinina koji je nepouzdan indikator akutnih promjena bubrežne funkcije, u prvom redu zbog ovisnosti o godinama, spolu, mišićnoj masi i mišićnom metabolizmu, te hidracijskom statusu. Gubitak bubrežne funkcije i do 50 % ne mora utjecati na koncentraciju serumskog kreatinina. Tijekom akutnih promjena u glomerulskoj filtraciji, serumski kreatinin ne pokazuje točno funkciju bubrega. Njegove promjene registriraju se tek nakon nekoliko dana.

## BIOMARKERI U AKUTNOM BUBREŽNOM ZATAJENJU

“Idealan” biomarker bi, osim u ranoj detekciji ABZ trebao pomoći u određivanju tipa (prerenalni, renalni, postrenalni), uzroka (ishemija, toksini, sepsa), te prognozi ABZ. Trebao bi biti neinvazivan, lako izvediv, brzo i jednostavno mjerljiv koristeći tehnike koje se rabe u standardnim kliničkim laboratorijima, te visoko senzitivni i specifičan.

U vrijeme današnjih novih tehnologija otkriveno je nekoliko novih gena i genskih produkata koji se mogu prihvatiti kao biomarkeri ABZ. Humani proteom sadrži preko 400.000 proteina. Proteini se mogu određivati različitim metodama, a na svakom od njih mogu se dobiti različite informacije i svaka ima određena ograničenja. Postignut je bitan napredak u preciznosti i brzini određivanja proteina u biološkim tekućinama što je omogućilo početak korištenja novijih urinarnih biomarkera u humanim modelima<sup>2</sup>. Najvažniji biomarkeri ABZ su: lipokalin udružen s neutrofilnom gelatinazom (engl. *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, NGAL), cistatin C (engl. *cystatin C*, Cy C), interleukin 18 (IL-18), molekula bubrežne ozljede (engl. *kidney injury molecule-1*, KIM-1).

### CISTATIN C

Cistatin C je protein male molekulske mase (13359 D) koji se sastoji od 120 aminokiselina. In-

hibitor je cistein proteaze, a sintetizira se u svim stanicama s jezgrom. Na njegovu koncentraciju ne utječu dob, spol, mišićna masa, upala ili maligne bolesti. Iz cirkulacije se eliminira glomerulskom filtracijom, reapsorbira i katabolizira u proksimalnim tubulima bubrega.

Određuje se u plazmi imunokemijskom metodom koja je specifična i osjetljiva. Pouzdan je test određivanja glomerulske filtracije. Njime se ABZ može dijagnosticirati i dva dana ranije u odnosu na određivanje serumskog kreatinina<sup>3</sup>.

U današnjoj kliničkoj praksi akutno bubrežno zatajenje obično se dijagnosticira mjerenjem serumskog kreatinina koji je nepouzdan indikator akutnih promjena bubrežne funkcije, u prvom redu zbog ovisnosti o godinama, spolu, mišićnoj masi i mišićnom metabolizmu, te hidracijskom statusu.

### KIM-1 (kidney injury molecule-1)

KIM-1 molekula je transmembranski protein. Može se pronaći u urinu bolesnika s oštećenjem tubularnih stanica različite etiologije, u prvom redu ishemijskom, te toksičnom oštećenju. U urinu “ishemičnih” bubrega KIM-1 se nalazi u vrlo visokoj koncentraciji dok se u urinu zdravih ljudi nalazi u maloj količini. Može biti koristan biomarker oštećenja proksimalnih tubula, a javlja se bitno ranije nego što se promijeni vrijednost serumskog kreatinina<sup>4</sup>. Zanimljivo je da nije značajno povišen u bolesnika s kroničnim bubrežnim zatajenjem (KBZ) za razliku od nekih drugih biomarkera. Ne može se koristiti kao marker rizika za odgođenu funkciju transplantiranog bubrega. Bolesnici s ABZ uzrokovanim kontrastnim sredstvima nemaju povišenu vrijednost KIM-1 u urinu. Urinarni KIM-1 dobar je marker koji može poslužiti u razlikovanju prerenalne azotemije i kronične bubrežne bolesti<sup>5</sup>.

### INTERLEUKIN-18 (IL – 18)

Interleukin 18 je proinflamatorni citokin. Urinarni IL-18 javlja se kao odgovor na oštećenje tubularnih stanica bubrega i može biti rani urinarni marker u dijagnosticiranju ABZ u nekim stanjima (transplantacija bubrega, kardijalne operacije u djece, životno ugrožena djeca u jedinicama intenzivnog liječe-

nja). Nije povišen u urinarnim infekcijama, prerenalnoj azotemiji, kroničnim bubrežnim bolestima i nefritičkom sindromu<sup>6</sup>. Povišene vrijednosti IL-18 javljaju se i do dva dana ranije nego što se povisi vrijednost serumskog kreatinina.

#### **NEUTROPHIL GELATINASE-ASSOCIATED LIPOCALIN (NGAL)**

Osim naziva *neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL) koriste se još nazivi lipocalin-2 (LCN2), neutrophil lipocalin (NL), p 25, oncogen

Najvažniji biomarkeri ABZ su:

- lipokalin udružen s neutrofilnom gelatinazom (eng. *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, NGAL)
- cistatin C (engl. *cystatin C*, Cy C)
- interleukin 18 (IL-18)
- molekula bubrežne ozljede (engl. *kidney injury molecule-1*, KIM-1).

24 p3. NGAL nastaje u stanicama distalnog neurona i njegova sinteza je regulirana, tj. ovisna o oštećenju bubrežnog tkiva. Pripada superfamiliji lipokalina koja se sastoji od preko 20 malih sekretornih proteina. Glavna uloga ove skupine (porodice) proteina, a ovisno o njihovoj strukturi, je vezanje i transport malih lipofilnih supstancija kao što su slobodne masne kiseline, retinoidi, arahidonska kiselina i različiti steroidi. Iako je otkriven prije više od 10 godina, njegova fiziološka uloga nije u potpunosti razjašnjena. Koncentracija NGAL-a povećava se u stanicama "u stresu" (npr. u infekciji, upali, u tkivima koja su ishemična ili tumorski promijenjena). Cirkulirajući NGAL sudjeluje u patogenezi metaboličkog sindroma, šećerne bolesti tipa 2 i kardiovaskularnih bolesti. Serumsko koncentracija NGAL-a je u pozitivnoj korelaciji s *adipocyte-fatty acid binding* proteinom (A-FBP), novim serumskim markerom za debljinu i metabolički sindrom.

Postoje standardizirani testovi za određivanje plazmatskog (Triage NGAL Device, Biosite Incorporated) i urinskog NGAL-a (ARCHITECT analyser, Abbot Diagnostics). Jednostavno su izvedivi, potrebno je 1 ml pune krvi ili plazme odnosno 150 µl urina, a rezultat je gotov za 15, tj. 35 min.

#### **NGAL u akutnom bubrežnom zatajenju**

Nakon dokazivanja povećane koncentracije NGAL-a u ABZ uzrokovanim ishemijom ili nefrotoksičnošću u pretkliničkim studijama, dokazane su 10 puta veće koncentracije NGAL-a u serumu i 100 puta veće u urinu bolesnika s ABZ koji su se liječili u jedinicama intenzivnog liječenja<sup>7</sup>. NGAL u serumu i urinu korelira s vrijednostima serumskog kreatinina. Biopsije bubrega ovih bolesnika pokazale su akumulaciju imunoreaktivnog NGAL-a u 50 % kortikalnih tubula. Dokazano je da je NGAL senzitivniji marker bubrežnog zatajenja. U ABZ vrlo se brzo povećava sinteza NGAL-a u stanicama proksimalnih tubula, te se povećava koncentracija ovog proteina u serumu i urinu.

U prospektivnoj studiji Mishre i sur. prikazano je da se u 28 % djece koja su bila podvrgnuta kardiokirurškom zahvatu javilo ABZ (definirano kao 50 %-tno povećanje serumskog kreatinina u odnosu na početni). Na osnovi serumskog kreatinina dijagnozu je bilo moguće postaviti tek jedan do tri dana nakon operacije, a određivanjem NGAL-a u urinu i plazmi unutar dva do šest sati nakon operacije. Oba, i urinski i plazmatski NGAL, bili su nezavisni prediktori razvoja ABZ s karakterističnom površinom pod krivuljom (engl. *area under the curve*, AUC) od 0,998 za dvosatni urinski NGAL i 0,91 za dvosatnu serumsku koncentraciju NGAL-a. Multivarijantnim analizama dokazano je da je dvosatna koncentracija NGAL-a nezavisan prediktor kliničkog ishoda, odnosno da je plazmatski i urinski NGAL senzitivniji, specifičniji i visoko prediktivan rani biomarker razvoja ABZ u djece nakon kardiokirurških zahvata<sup>8</sup>.

U odraslih koji su podvrgnuti kardiokirurškom zahvatu, a u kojih se razvilo ABZ, nije potvrđen ovaj nalaz. Naime, koncentracija NGAL-a u urinu bila je povećana jedan do tri sata nakon operacije i u bolesnika kod kojih se nije javilo ABZ<sup>8</sup>. AUC u ovoj studiji iznosila je 0,74 za trosatni NGAL i 0,80 za 18-satni NGAL.

#### **NGAL u transplantaciji bubrega**

NGAL se može koristiti kao biomarker ABZ u bolesnika s bubrežnim transplantatom. Postoji značajna korelacija između vrijednosti NGAL-a i odgođene funkcije transplantata što je dokazano i biopsijama transplantata koje su učinjene jedan sat nakon vaskularne anastomoze<sup>10</sup>.

U prospektivnoj multicentričnoj studiji Parikha i suradnika koja je obuhvatila djecu i odrasle, koncentracija urinskog NGAL-a i IL-18 u jednom uzorku na dan transplantacije može identificirati primaoca bubrega od umrle osobe u kojeg će funkcija transplantata biti odgođena<sup>11</sup>.

U nedavnoj retrospektivnoj studiji Schaub i sur. primaoci bubrežnog transplantata kojima je učinjena protolarna biopsija ili klinički indicirana biopsija, urinska NGAL koncentracija bila je značajno viša u osoba s tubulitisom ili nekom drugom tubularnom patologijom. Urinski NGAL bio je povećan u primaoca bubrega sa supkliničkim tubulitisom. Prema ovome NGAL predstavlja neinvazivnu metodu za detekciju tubulointersticijske bolesti u ranim mjesecima nakon transplantacije.

### NGAL kod nefrotoksičnosti

NGAL se pokazao i kao prediktivni biomarker nefrotoksičnosti. Kod djece kojima je učinjena kateterizacija srca s administracijom kontrasta, a u kojih se javila kontrastom inducirana nefropatija (definirana 50 %-tnim povišenjem vrijednosti serumskog kreatinina u odnosu na bazalnu vrijednost) dva je sata nakon kateterizacije bila povećana koncentracija urinskog i plazmatskog NGAL-a<sup>12,13</sup>. AUC za dvosatni urin je iznosio 0,92, a 2-satnu plazmu 0,91. Koncentracija NGAL-a u urinu i plazmi nezavisni su prediktori za razvoj kontrastne nefropatije.

### NGAL u kroničnim bubrežnim bolestima

Rezultati iz literature sugeriraju da je NGAL marker i bubrežnih bolesti. U bolesnika s kroničnom bubrežnom bolesti zbog bubrežne displazije, opstruktivne uropatije i glomerulskih ili cističnih bolesti, plazmatski NGAL je inverzan glomerularnoj filtraciji (GFR)<sup>14</sup>. Kod pada GFR ispod 30 ml/min određivanje NGAL-a nadilazi vrijednost određivanja cistatina C kao biomarker bubrežnog zatajenja<sup>14</sup>.

Oba, i urinski i plazmatski NGAL predstavljaju biomarker stadija bubrežne bolesti u bolesnika s autosomno dominantnom policističnom bolesti bubrega. U ovih bolesnika koncentracija NGAL (plazmatski i urinski) korelira s rezidualnom GFR, te u bolesnika s jače izraženom bolesti (mjereći više od 10 cista) viša je i vrijednost NGAL-a<sup>15</sup>.

Urinski NGAL predstavlja rani biomarker stupnja kroničnog tubulointersticijskog oštećenja i u bolesnika s IgA nefropatijom<sup>16</sup>.

### ZAKLJUČAK

Moderna znanost omogućila je otkrivanje biomarkera za rano dijagnosticiranje ABZ kao i kronične bubrežne bolesti. Najznačajniji je NGAL koji je marker akutnog oštećenja tubularnih stanica bubrega kao i marker progresije određenih bubrežnih bolesti. Dosadašnje studije su pokazale da je efikasan marker za dijagnosticiranje ABZ u životno ugrožene djece u jedinicama intenzivnog liječenja, za dijagnosticiranje ABZ nastalog kao posljedica administracije kontrastnog sredstva, te u dijagnosticiranju odgođene funkcije transplantata. Potrebne su daljnje studije na većem broju bolesnika da bi se definirala njegova potpuna vrijednost i primjena u kliničkoj praksi.

### LITERATURA

1. Xue JL, Daniels F, Star RA, Kimmel PL, Eggers PW, Molitoris BA et al. Incidence and mortality of acute renal failure in medicare beneficiaries, 1992 to 2001. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:1135-42.
2. Ngugen MT, Devarajan P. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Pediatr Nephrol* 2008;23:2151-7.
3. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J, Goring F, Pietruck F, Janssen O et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int* 2004;66:1115-22.
4. Han W, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney Injury Molecule -1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int* 2002;62:237-44.
5. Ichimura T, Hung CC, Yang SA, Stevens JL, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarkers for nephrotoxicant-induced renal injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004;286:552-63.
6. Parikh CR, Jani A, Melnikov VY, Fabuel S, Edelstein CL. Urinary interleukin-18 is a marker of human acute tubular necrosis. *Am J Kidney Dis* 2002;43:405-14.
7. Mori K, Lee HT, Rapoport D, Drexler I, Foster I, Yang Y et al. Endocytic delivery lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *J Clin Invest* 2005;115:610-21.
8. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnief MM, Ma Q, Kelly C. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005;365:1231-8.
9. Wagner G, Jan M, Kim M, Mori K, Barasch JM, Sladen RN et al. Association between increase in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology* 2006;105:485-91.

10. Mishra J, Ma Q, Kelly C, Mitsnefes M, Mori K, Barasch J et al. Kidney NGAL is a novel early marker of acute injury following transplantation. *Pediatr Nephrol* 2006;21:856-63.
11. Parikh CR, Jani A, Mishra J, Ma Q, Kelly C, Barasch J et al. *Am J Transplant* 2006;6:1639-45.
12. Bachorzewska-Gajewska H, Malyszko J, Sitniewska E, Malyszko JS, Dobrzycki S. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and renal function after percutaneous interventions. *Am J Nephrol* 2006;26:287-92.
13. Hirsch R, Dent C, Pfrim H, Allen J, Beekman RH 3rd, Ma Q. NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatr Nephrol* 2007;22:2098-95.
14. Mitsnefes M, Kathman T, Mishra J, Kartal J, Khoury P, Nickolas T. Serum NGAL as a marker of renal function in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2007;22:101-8.
15. Bolognani D, Coppolino G, Campo S, Aloisi C, Nicocia G, Frisina N. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients with autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Am J Nephrol* 2007;27:373-8.
16. Ding H, He Y, Li K, Yang J, Li X, Lu R. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is an early biomarker for renal tubulointerstitial injury in IgA nephropathy. *Clin Immunol* 2007;123:227-34.